

Nota de interés

Problemática de la podredumbre carbonosa en soja (*Glycine max*)

Chiesa, M.A.^{1,2}, Reznikov, S.³, Cambursano, M.V.¹, Fiorito, N.¹, Firpo, N.K.¹, Acerbo, A.¹,
Martínez, G.E.², Morandi, E.N.¹

¹ Laboratorio de Fisiología Vegetal

² Cátedra de Química Biológica

Facultad Ciencias Agrarias - UNR

³ Fitopatología

Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC)

mchiesa@unr.edu.ar

Relevancia de la enfermedad en el país y el mundo

A medida que se expandió el área sembrada con soja [*Glycine max* (L.) Merr.] a nivel mundial, y en particular en nuestro país, las enfermedades que la afectan se incrementaron en número y severidad. Varios factores han contribuido a esta problemática: la siembra de cultivares susceptibles, la utilización de semilla de baja calidad sanitaria, el monocultivo, los suelos empobrecidos y/o distintos factores ambientales que favorecen el desarrollo de la mayoría de estas enfermedades (Ploper, 2004).

En particular, la **Podredumbre Carbonosa** (PC), causada por el hongo necrótrofo *Macrophomina phaseolina* (Mp), es una enfermedad que limita significativamente los rendimientos de diferentes cultivos de Norte y Sur América, Asia, Australia, África y algunas partes de Europa. Específicamente en nuestro País, esta enfermedad fue muy importante para la soja a partir de la campaña 2000/01 y afectó la producción de las provincias de Catamarca, Chaco, Córdoba, Entre Ríos, Santa Fe, Salta, Santiago del Estero y Tucumán; es decir que la misma impactó en el noroeste argentino (NOA) y en gran parte de la región sojera núcleo. Su presencia en aquella campaña se detectó a partir del mes de febrero, en etapas reproductivas del cultivo, causando daños de diversa magnitud y en algunos casos pérdidas totales del cultivo. Particularmente, en la zona sojera del NOA, la PC fue la principal enfermedad en las campañas 2011/12 y 2012/13, afectando raíces y cuello del tallo de la planta, alcanzando valores máximos puntuales de incidencia de 30 y 90%, para las campañas 2011/12 y 2012/13, respectivamente (Reznikov et al., 2013).

Descripción de la enfermedad, síntomas y manejo de PC

M. phaseolina muestra amplia variabilidad morfológica, fisiológica, patogénica y genética (Su et al., 2001) lo que le ha permitido adaptarse a diferentes condiciones ambientales y tener una amplia distribución geográfica, afectando cerca de 500 especies vegetales comprendidas en más de 100 familias alrededor del mundo (Srivastava et al., 2001). Además de la soja, este hongo presenta un amplio rango de hospedantes en cultivos de importancia económica como algodón, garbanzo, maíz, poroto, sorgo y caupí, entre otros (Mengistu et al., 2007). El hongo presenta dos fases asexuales dentro de su ciclo de vida: la fase esclerocial [*Rhizoctonia bataticola* (Taubenhaus) E. J. Butler], saprofítica, y una fase picnidial (*M. phaseolina*), patogénica. Además, presenta una fase sexual, denominada *Orbilia obscura* (Ghosh) Mukerji y Basak (Mihail, 1992).

La incidencia de la PC en el cultivo de la soja se incrementa con condiciones climáticas de temperaturas elevadas (28-35 °C), humedad edáfica baja y condiciones de estrés hídrico. Los síntomas de la PC comienzan con la pérdida de vigor de la planta y en etapas más avanzadas de la enfermedad, las hojas y los pecíolos pueden ponerse cloróticos y necróticos, quedando aún conectados a la planta. La PC puede reducir el peso total de la planta y el volumen y peso de las raíces hasta un 50%. El daño en las raíces es más evidente en el estadio reproductivo de formación de los frutos y llenado de los granos. En las plantas enfermas, con raíces más pequeñas, las semillas tienden a ser menos y más livianas. Además, las plantas enfermas maduran varias semanas antes, lo cual contribuye en gran medida a la disminución en el rendimiento atribuible a esta enfermedad (Mengistu et al., 2007).



www6.ufrgs.br/agronomia/fitossan/fitopatologia/ficha.php?id=259

Imagen 1: Podredumbre carbonosa de la raíz y tallo de la soja (causada por *Macrophomina phaseolina*) (izquierda y derecha). En el centro se observa grupo de plantas en el campo, afectadas por PC.

Actualmente, como medidas de manejo de la PC se destacan el uso de semillas de alta sanidad, ya que el hongo *Mp* se transmite por semilla; la rotación con cultivos menos

susceptibles, dado que el patógeno también sobrevive en el rastrojo; uso de fungicidas curasemillas (bencimidazoles, triazoles, estrobirulinas) para reducir o inhibir la germinación del agente causal y, de ser posible, la irrigación para mantener las condiciones de humedad óptimas en el suelo, sobre todo en los períodos de desarrollo reproductivo.

No obstante, el método más eficaz de control es la incorporación de resistencia genética al germoplasma comercial de soja. Sin embargo, es importante destacar que ***en la actualidad no existen cultivares comerciales de soja con resistencia a PC***, debido a que la resistencia a esta enfermedad ha sido difícil de identificar. Hasta el momento, sólo se caracterizó al genotipo DT97-4290 de soja como moderadamente resistente a la PC (Mengistu et al., 2007).

Avances en la investigación de la interacción Soja – *M. phaseolina*

El grupo de trabajo formado por el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Fac. de Cs. Agrarias, UNR (LFV-FCAR) y el Instituto de Tecnología Agroindustrial (ITA)-NOA (CONICET)/Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC), Tucumán, se constituyó en el marco del Convenio de Cooperación firmado por ambas Instituciones (período 2012-2017). Dicho grupo viene analizando distintos aspectos de la interacción soja-*Mp* desde hace años, especialmente los relacionados con aspectos epidemiológicos, fitopatológicos y la caracterización molecular de aislamientos monospóricos del hongo. Particularmente, el ITA-NOA/EEAOC comenzó con el estudio de la enfermedad en el 2008 en el NOA. En un principio se realizaron prospecciones de la incidencia y severidad de la enfermedad, notando aumentos progresivos en las sucesivas campañas. Como resultado de estas investigaciones se conformó un banco de aislamientos monospóricos del hongo, los cuales fueron caracterizados morfológica, biológica y molecularmente (Reznikov, Tesis Doctoral en curso). Posteriormente, se trabajó en la caracterización del comportamiento de germoplasma de soja frente a *Mp*, para hallar otros genotipos resistentes a PC, de buen comportamiento agronómico, que puedan ser utilizados como progenitores dadores de resistencia, alternativos a DT97-4290, en planes de mejoramiento convencional de la soja. Esta búsqueda, realizada a partir de inoculaciones a campo, permitió detectar el genotipo de soja TUC-05, que mostró un comportamiento significativamente superior frente a distintos aislamientos de *Mp*, cuando se lo comparó con otros genotipos de soja caracterizados como susceptibles (Reznikov, Tesis Doctoral). Por lo tanto, TUC-05 constituye una nueva fuente de resistencia a la PC, cuyo comportamiento resultó superior a DT97-4290, demostrado en ensayos de campo. Esto convierte a TUC-05 en una fuente valiosa como donante de resistencia a *Mp*, sin los inconvenientes derivados de la introgresión de genes/QTLs de resistencia a partir de germoplasma de menor valor agronómico (e.g. pérdida de rendimiento potencial, escasa adaptabilidad agro-ecológica, etc.).

El objetivo principal del proyecto que se lleva a cabo actualmente en el LFV-FCAR es identificar regiones genómicas de la soja asociadas con la resistencia a la PC en el mapa público de ligamiento genético de este cultivo. Uno de los objetivos específicos es identificar marcadores moleculares (MM) ligados a dichas regiones para incorporarlas en

germoplasma comercial. Su importancia radica en que en la actualidad no sólo no existen cultivares de soja con resistencia a la PC, sino que tampoco se han identificados MM ligados a genes/QTLs para resistencia a *M. phaseolina*, en soja. Asimismo, se propone profundizar en el conocimiento de las bases bioquímicas y moleculares de la respuesta de defensa inducida en genotipos resistentes a *Mp*.

Contribuciones del grupo de trabajo

La evaluación convencional de genotipos de soja se hace en el campo, en estadio reproductivo avanzado (madurez fisiológica, R7) del ciclo del cultivo (Mengistu et al., 2007). Esto, sumado a la complejidad y variabilidad de las determinaciones en el campo hizo surgir la necesidad de desarrollar un sistema confiable y reproducible que permitiera evaluar y cuantificar los niveles de susceptibilidad/resistencia de los genotipos de soja frente a diferentes aislamientos monospóricos de *Mp* a través de inoculaciones en condiciones controladas. Para ese fin se desarrolló en el LFV-FCAR un método *in vitro* de evaluación de genotipos de soja en etapas tempranas del desarrollo, que permite ver diferencias significativas de comportamiento frente al patógeno de forma rápida, sencilla y económica, con resultados cuantificables y reproducibles (Chiesa et al., 2014). Utilizando esta metodología, se evaluó la respuesta frente a *Mp* de genotipos susceptibles (S), del genotipo DT-974290 (moderadamente resistente, MR) y del genotipo TUC-05 (resistente, R), desde las 48 h post-germinación y hasta los 18 días post-infección. Se analizaron distintos parámetros para evaluar la respuesta de cada genotipo frente a *Mp* y estos resultados permitieron concluir que efectivamente el genotipo TUC-05 presenta muy buen comportamiento frente a distintos aislamientos de *Mp*, aún cuando se lo enfrenta al patógeno desde la germinación de la semilla. Asimismo, los resultados *in vitro* obtenidos para este genotipo son significativamente mejores que los obtenidos, en las mismas condiciones de trabajo, para el genotipo DT97-4290, previamente caracterizado como moderadamente resistente a *Mp*, en condiciones de campo (Chiesa et al., 2015).

Debido a que la resistencia a *Mp* en soja es cuantitativa y con heredabilidad relativamente baja, pudiendo estar involucrados múltiples genes, de efecto menor (*Quantitative Trait Loci* o QTL, por su denominación en inglés), el análisis de la herencia y la introgresión de esta característica en germoplasma elite de soja es compleja. Por lo tanto, la detección de marcadores moleculares ligados a los QTLs determinantes de esta resistencia, será una herramienta de gran importancia para asistir al mejoramiento genético para la obtención de variedades de soja con resistencia a la PC. Hasta el momento solamente han sido informados MM asociados a la resistencia a la PC en sorgo (Srinivasa Reddy et al., 2008), caupí (Muchero et al. 2011) y yute (Biswas et al., 2015). En los casos mencionados, la resistencia fue cuantitativa y con heredabilidad relativamente baja, lo cual significa que pueden estar involucrados múltiples genes, probablemente de efecto menor (QTL) y con alta influencia ambiental, (Kearsey & Pooni, 1996).

Desde el punto de vista tecnológico disponer de MM ligados a la resistencia a la PC facilitará la introgresión de resistencia a esta enfermedad en planes de mejoramiento. Con este objetivo en los últimos años, investigadores del LFV-FCAR en colaboración con

ayudantes alumnos de la cátedra, llevan adelante la obtención de Líneas Endocriadas Recombinantes (LERs), a partir de poblaciones de soja segregantes para la resistencia a *M. phaseolina*. Las poblaciones se obtuvieron a partir de cruzamientos dirigidos de genotipos susceptibles por el genotipo TUC-05 y del genotipo DT-974290 x TUC-05. Las mismas serán utilizadas para el mapeo de los QTLs involucrados con la resistencia a la PC provenientes del genotipo TUC-05. Asimismo, el mejoramiento asistido por MM, ligados a la resistencia a PC, ayudará a incrementar la calidad fitosanitaria del cultivo, en un marco de desarrollo sustentable (*i.e.* menor utilización de fungicidas).

Bibliografía

- Agrios, G.N. (2005). Plant Pathology. 5th ed. New York, Academic Press.
- Biswas, C.; Dey P.; Karmakar P.G.; Satpathy S. (2015) Discovery of large-scale SNP markers and construction of linkage map in a RIL population of jute (*Corchorus capsularis*). Mol Breeding 35:119.
- Chiesa, M.A.; Cambursano, M.V.; Agusti, M.N.; Vellicce, G.; Reznikov, S., Castagnaro, A. P. y Morandi, E.N. (2014) “Desarrollo de un método in vitro para evaluación de genotipos de soja resistentes a *Macrophomina phaseolina*.” XV Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal y XXX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Mar del Plata, Argentina.
- Chiesa, M.A.; Reznikov, S.; Vellice, G.R.; Bogado, N.; Bernal, M.L.; De Lisi, V.; Cambursano, M.V.; García M.G.; Rocha C.M.L.; González V.; Morandi, E.N.; Ploper, L.D.; Castagnaro, A.P. Caracterización patogénica de aislamientos de *Macrophomina phaseolina* provenientes del Noroeste Argentino y Paraguay. X Simposio RedBio Argentina 2015. San Miguel de Tucumán, Argentina del 2 al 4 de setiembre de 2015.
- Kearsey, M.J.; Pooni, H.S. (1996). Genes, genetic markers and maps. In: The genetical analysis of quantitative traits. 1st ed. London. UK. pp. 101-133.
- Lam, H.M.; Xu, X.; Liu, X.; Chen, W., et al. (2010) Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. Nat Genet 42(12): 1053–1059.
- Men Mah, K., Srinivasa Rao, Uppalapati, S.R., Tang, Y., et al (2012). Gene expression profiling of *Macrophomina phaseolina* infected *Medicago truncatula* roots reveals a role for auxin in plant tolerance against the charcoal rot pathogen. Physiol and Molecular Plant Pathology 79: 21-30.
- Mengistu, A.; Ray, J.D.; et al. (2007). Charcoal Rot Disease Assessment of Soybean Genotypes Using a Colony-Forming Unit Index. Crop Science 47 (6): 2453-2461.

Mihail, J.D. (1992). *Macrophomina*. pp. 134-136. In: L.L. Singleton, J.D. Mihail, and C.M. Rush (eds.). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press. St. Paul, MN, USA. 265 p.

Muchero et al. (2011). Genic SNP markers and legume synteny reveal candidate genes underlying QTL for *Macrophomina phaseolina* resistance and maturity in cowpea [*Vigna unguiculata* (L) Walp.]. *BMC Genomics* 12:8.

Ploper, L.D. (2004). Economic importance and control strategies for the major disease in Argentina. In: *Proceedings VII World Soybean Research Conference*, Foz de Iguazu, PR, Brazil. 606-614.

Ploper, L.D.; González, V.; V. de Ramallo, N.; Gálvez, R.; Devani, M. (2001). Presencia de la podredumbre carbonosa del tallo de la soja en el centro y noroeste argentino. *Avance agroindustrial*. Vol. 22-Nº 2. pp. 30-34.

Reznikov, S. (2013). Reporte Agroindustrial, Boletín N°87, EEAOC. Octubre 2013 <http://www.eeaoc.org.ar/upload/publicaciones/archivos/415/20140319163127000000.pdf>.

Srinivasa Reddy, P.; Fakrudin, B.; Rajkumar, S.; Punhuri, M.; et al. 2008. Molecular mapping of genomic regions harboring QTLs for stalk rot resistance in sorghum. *Euphytica* 159:191–198.

Su, G.; Suh, S.O.; Schneider, R.W.; Russin, J.S. (2001). Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology* 91:120-126.

Wrather, J. A.; G. Shannon; R. Balardin; L. Carregal; R., et al (2010). Effect of diseases on soybean yield in the top eight producing countries in 2006. *Plant Health Progress*. [En línea]. DOI: 10.1094/PHP-2010-0125-01-RS.

Wrather, J.A.; Koenning, S.R. (2006). Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003 to 2005. *Journal of Nematology* 38: 173-80.

Xu, 2010. *Molecular plant breeding*. CAB International 2010, Wallingford, UK.